

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 07-051079

(43)Date of publication of application : 28.02.1995

(51)Int.Cl.

C12P 19/02
A23L 1/236
// (C12P 19/02
C12R 1:38)

(21)Application number : 06-116053

(71)Applicant : SUEDZUCKER AG MANNHEIM
OCHSENFURT

(22)Date of filing : 06.05.1994

(72)Inventor : KUNZ MARKWART
DEGELMANN HANSPETER
WACH WOLFGANG
MUNIR MOHAMMAD
KOWALCZYK JOERG
VOGEL MANFRED

(30)Priority

Priority number : 93 4314961
93 93120934

Priority date : 06.05.1993
27.12.1993

Priority country : DE

EP

(54) SWEETENER, ITS PREPARATION AND USE THEREOF

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain a sweetener having such characteristics as having a low calorie and hardly causing carries, and to provide a process for preparing the sweetener.

CONSTITUTION: This process for preparing a sweetener comprises a step for enzymically carrying out a transfer reaction of a sucrose by an enzyme to provide a saccharide mixture which is called an 'isomerized sucrose' having at least 85 wt.% disaccharide content, a step for hydrolyzing the unreacted remaining sucrose by using the enzyme and/or an H-type strong acid cation exchanger, a step for hydrogenating the 'isomerized sucrose' in the presence of a catalyst, and preferably a step for separating the saccharide mixture at the step before or after the hydrogenation step by using a chromatography. The sweetener prepared by the process and the use of the sweetener are also provided.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

16.06.2000

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

特開平7-51079

(43)公開日 平成7年(1995)2月28日

(51)Int. Cl.⁶ 識別記号 F I
C12P 19/02 7432-4B
A23L 1/236 A
//(C12P 19/02
C12R 1:38)

審査請求 未請求 請求項の数10 F D (全8頁)

(21)出願番号	特願平6-116053	(71)出願人	591035715 ジューツツカー・アクチエンゲゼルシャ フト・マンハイム/オクセンフルト SUDZUCKER AKTIENGES ELLSCHAFT MANNHEIM/ OCHSENFURT ドイツ連邦共和国デー-68165マンハイム ・マキシミリアンシュトラセ10
(22)出願日	平成6年(1994)5月6日	(72)発明者	マルクバルト・クンツ ドイツ38104ブラウンシュバイク・ケテル ベルク 6
(31)優先権主張番号	P 4 3 1 4 9 6 1 . 8	(74)代理人	弁理士 小田島 平吉
(32)優先日	1993年5月6日		
(33)優先権主張国	ドイツ (DE)		
(31)優先権主張番号	9 3 1 2 0 9 3 4 . 0		
(32)優先日	1993年12月27日		
(33)優先権主張国	ドイツ (DE)		

最終頁に続く

(54)【発明の名称】甘味料、その製造方法及び利用方法

(57)【要約】

【構成】 酵素によって蔗糖を転移反応させ、少なくとも85重量%の二糖類を含む糖類混合物「異性化蔗糖」を得る段階、未反応の残存蔗糖を酵素及び/又はH型強酸性陽イオン交換体を用いて加水分解する段階、触媒存在下で「異性化蔗糖」を水素添加する段階、ならびに好ましくは、水素添加の前段階又は後段階において、クロマトグラフィーを用いて糖類混合物を分離する段階、を含んでなる甘味料の製造方法、ならびにかかる方法で製造された甘味料及びその用途。

【効果】 低カロリーで虫歯の原因になり難い、等の甘味料及びその効率のよう製造方法が提供される。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 以下に記載した特徴を有する甘味料の製造方法

- 1) 第 1 段階では、酵素によって蔗糖を転移反応させ、少なくとも 85 重量%の二糖類を含む糖類混合物「異性化蔗糖」を得る。
- 2) 第 2 段階では、未反応の残存蔗糖を酵素及び／又は H 型強酸性陽イオン交換体を用いて加水分解する。
- 3) 次の段階では、触媒存在下で「異性化蔗糖」を水素添加する。
- 4) 好ましくは、水素添加の前段階又は後段階において、クロマトグラフィーを用いて糖類混合物を分離する。

【請求項 2】 蔗糖の転移反応において、プロタミノバクター・ルブラム(CBS574.77)、セラチア・プリムチカ(ATCC 15928)、セラチア・マルセッセンス(NCIMB 8285)、ロイコノストック・メセントロイデス(NRRL-B 512 F (ATCC 1083a))及びエルヴィニア・ラボンティシ(NCPP B 1578)のバクテリア菌株を用いることを特徴とする請求項 1 記載の甘味料の製造方法。

【請求項 3】 蔗糖の転移反応において、シュードモナス・メソアジドフィラ種又はアグロバクテリウム・ラジオバクター種を用いて水溶液中で反応を行なうことを特徴とする請求項 1 記載の甘味料の製造方法。

【請求項 4】 蔗糖の転移反応において、シュードモナス・メソアジドフィラ MX-45(BP 3619)又はアグロバクテリウム・ラジオバクター MX-232(BP 3620)を用いることを特徴とする請求項 3 記載の甘味料の製造方法。

【請求項 5】 ナトリウム、カリウム又はカルシウム型の強酸性陽イオン交換樹脂、あるいは Si/Al 比 > 50 のゼオライトを用いて、混合物中のオリゴ糖アルコール及び／又は単糖アルコールを分離することを特徴とする、請求項 1～4 のいずれかに記載の甘味料の製造方法。

【請求項 6】 重量比 10～50%の 6-O- α -D-グルコピラノシル-D-ソルビトール (=1,6-GPS)

重量比 2～20%の 1-O- α -D-グルコピラノシル-D-ソルビトール (=1,1-GPS)

重量比 30～70%の 1-O- α -D-グルコピラノシル-D-マンニトール (=1,1-GPM)

で構成される混合物であって、特に、請求項 1、2 及び 5 のいずれかに記載の製造方法で製造された甘味料。

【請求項 7】 重量比 25～50%の 6-O- α -D-グルコピラノシル-D-ソルビトール (=1,6-GPS)

重量比 2～20%の 1-O- α -D-グルコピラノシル-D-ソルビトール (=1,1-GPS)

重量比 30～70%の 1-O- α -D-グルコピラノシル-D-マンニトール (=1,1-GPM)

を含有する請求項 6 記載の甘味料。

【請求項 8】 重量比 5～10%の 6-O- α -D-グルコピラノシル-D-ソルビトール (=1,6-GPS)

重量比 30～40%の 1-O- α -D-グルコピラノシル-D-ソルビトール (=1,1-GPS)

重量比 45～60%の 1-O- α -D-グルコピラノシル-D-マンニトール (=1,1-GPM)

で構成される混合物であって、特に、請求項 1、及び 3～5 のいずれかに記載の製造方法で製造された甘味料。

【請求項 9】 少量のマンニトール、ソルビトール、水素添加されたオリゴ糖または水素添加されていないオリゴ糖(DP \geq 3)、あるいはこれらの混合物を含有する、請求項 6～8 のいずれかに記載の甘味料。

【請求項 10】 請求項 7～9 のいずれかに記載の甘味料を、食品又は嗜好品の甘味料として固形又は溶液の状態で利用する方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、新しい甘味料、その製造方法、及びそれを食品または嗜好品に利用する方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 蔗糖はカロリーが高く、虫歯の原因となり、また糖尿病患者には適さず、一方サッカリン、サイクラメートまたはアスパルテームのような合成甘味料は雑味がありボディ効果がないため、これらとは異なる別の甘味料が求められている。このような甘味料として今までに、虫歯の原因とならない低カロリーの甘味料として、マルチトール、ラクチトール及びイソマルチトールが提案されてきている。しかし、マルチトールとラクチトールはシロップ状のため使用が限られており、イソマルチトールは経済的な方法で製造することができなかった。

【0003】 イソマルチトールは、例えばドイツ特許明細書 DE 22 17 628 A1 に述べられているように、イソマルチュロースを中間生産物としてこれを触媒存在下で水素添加させることによって得られる。中間生産物のイソマルチュロースの収率はわずか 45% しかないことから、イソマルチトールの総合的な収率は 41% にとどまった。

【0004】 ヨーロッパ特許出願公開第 28 900 号、同 49 472 号および同 91 063 号明細書では、固定化バクテリア菌体を用い蔗糖をイソマルチュロースへ、約 80% の収率で転移反応させることができる。しかし、イソマルチトールの製造には精製されたイソマルチュロースが必要なことから、イソマルチュロースの結晶化の段階で収率の低下が生じでしまった。

【0005】 また、イソマルチトールは溶解度が小さいため、食品の中で晶出しやすいという欠点がある。そのため、例えばチョコレートではざらついた食感となり、ハードキャラメルは透明感を失い、マーマレード中では晶出する。

【0006】 ドイツ特許出願公開第 25 20 173 号明細

書では、イソマルチュロースの中性水溶液を触媒の存在下で還元することによって、6-0- α -D-グルコピラノシル-D-ソルビトール (=1,6-GPS)の他に、立体異性体である1-0- α -D-グルコピラノシル-D-マンニトール (=1,1-GPM)がほぼ1:1の重量比で得られることが知られている。1,1-GPMは溶解度が小さいため容易に分離することができる。また、低カロリーでボディー効果があるため糖尿病患者用の食事療法食には適しているが、低溶解性のため食品中でイソマルチトールよりも容易に晶出しやすく、また甘味度が蔗糖の約40%であるため同じ甘味効果を得るためには多量に使用しなければならないとい

フラクトース	乾燥固形分重量比	5-8%
グルコース	乾燥固形分重量比	2-5%
蔗糖	乾燥固形分重量比	0-0.5%
イソマルチュロース	乾燥固形分重量比	65-72%
トレハロース	乾燥固形分重量比	10-20%
その他のオリゴ糖類	乾燥固形分重量比	3-6%

このような糖混合物は、糖尿病患者用の食事療法食には適さない。なぜならば、これらのうちの幾つかの成分は、カロリー源となり、インスリンの分泌を刺激し、う蝕を促進するからである。また、この糖混合物を遊離または固定化バクテリア細胞と共に約100時間適当な条件下で維持することによって、トレハロースの含有量を35%まで上昇させることができるが、この方法は経済的ではない。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】それゆえ、本発明は次のような課題をもつ。すなわち、新しい、低カロリーで虫歯の原因にならず、かつ、糖尿病患者に適した甘味料であって、十分なボディー効果と共に好ましい甘味効果を有しており、固形化するのが簡単で、経済的に製造でき、利用上十分な高濃度で再結晶化が起らない、このような甘味料を提供することを本発明の課題とする。

【0011】

【課題を解決するための手段】この課題を解決するために、請求項1の甘味料の製造方法、請求項6~9の甘味料、及びこの甘味料を食品や嗜好品に利用する方法を提案する。下位の請求項においてこれらをさらに発展させたものを提案する。

【0012】この発明は、蔗糖の転移反応段階、未反応の蔗糖の除去、及び触媒存在下の水素添加反応を組み合わせ、好ましくは水素添加反応の前後の何れかにクロマトグラフィーで処理し、特に菌株を特別に選択することによって、好ましい特性を有する甘味料が得られるという驚くべき確証に基づいている。

【0013】以下、本発明を詳しく説明するが、必要に応じて次の略号を使用する。

【0014】1,6-GPSは、6-0- α -D-グルコピラノシル-D-ソルビトール

マンニトール (フラクトースから)

う問題点がある。

【0007】しかし、1,6-GPSや1,1-GPMと他の糖アルコールまたは糖を混合しても満足できる製品は得られていない。結晶化を抑制する性質を有するソルビトールを用いても、高吸湿性で粘着性のある製品が得られるだけである。

【0008】ヨーロッパ特許出願公開第109009号明細書には、プロタミノバクター・ルブラム(*Protaminobacter rubrum*)(CBS 574.77)を用いて蔗糖から製造した、以下の組成を有する転移反応生成物が記載されている。

【0009】

乾燥固形分重量比	5-8%
乾燥固形分重量比	2-5%
乾燥固形分重量比	0-0.5%
乾燥固形分重量比	65-72%
乾燥固形分重量比	10-20%
乾燥固形分重量比	3-6%

1,1-GPSは、1-0- α -D-グルコピラノシル-D-ソルビトール

1,1-GPMは、1-0- α -D-グルコピラノシル-D-マンニトール

さらに留意しておかなければならないことは、水素添加により

イソマルトースから 1,6-GPS が100%、

イソマルチュロースから 1,1-GPM が43~57%、

1,6-GPS が43~57%、

トレハロースから 1,1-GPM が50~80%、

1,1-GPS が20~50% が得られることである。

本発明の方法によると、第1段階では、プロタミノバクター・ルブラム(*Protaminobacter rubrum*)(CBS574.7

7)、セラチア・プリムチカ(*Serratia plymuthica*)(ATCC 15928)、セラチア・マルセッセンス(*Serratia marcescens*)(NCIMB 8285)、ロイコノストック・メセントロイデス(*Leuconostoc mesenteroides*)(NRRL-B 512 F (ATCC 1083a))またはエルヴィニア・ラポンティシ(*Erwinia rhaipontici*)(NCPBP 1578)の菌株を用いることによって、蔗糖の転移反応を行なう。

【0015】第2段階では、転移反応によって得られた「異性化蔗糖」から未反応の残存蔗糖を除去する。これが本発明の核心部分であり、転化酵素及び/または転化樹脂を使って純粋な蔗糖溶液をグルコースとフラクトースからなる混合物に加水分解することは従来から知られていることであるが、他の二糖類が多量に存在する中これらを損なわずに蔗糖のみを加水分解できることは今までに知られていなかった。

【0016】第3段階では、残存蔗糖が除去された「異性化蔗糖」を水素添加する。この時、以下の組成の混合物が得られる。

【0017】

重量比 3~4%

5

6

ソルビトール (フラクトースとグルコースから)

重量比 4~9%

6-0- α -D-グルコピラノシル-D-ソルビトール

(1,6-GPS) (イソマルチュロースから)

重量比 10~55%

1-0- α -D-グルコピラノシル-D-ソルビトール

(1,1-GPS) (トレハロースから)

重量比 2~20%

1-0- α -D-グルコピラノシル-D-マンニトール

(1,1-GPM) (イソマルチュロースとトレハロースから) 重量比 2~20%

オリゴ糖の糖アルコール

重量比 3~6%

蔗糖

重量比 1%以下

GPS/GPMの比率は水素添加条件 (アルカリ性/中性) により、およそ 2:1 から 1:7 である。

【0018】オリゴ糖は、製品の利用上の性質あるいは生理学的な性質に悪影響を及ぼす可能性があるため、付加かつ優先的に陽イオン交換樹脂あるいはゼオライトを用いたクロマトグラフィーによってこれを分離する。

【0019】クロマトグラフィー分離によって得られたソルビトール、マンニトール、1,6-GPS、1,1-GPS、1,1-GPM からなる混合物は、液状または乾燥状態の流動性の高い甘味料として使用することができる。

陽イオン交換樹脂またはゼオライトを用いたクロマトグラフィー分離により、「異性化蔗糖」生成物から水素添加できない未反応の残存蔗糖や、特にグルコース、フラクトース及びオリゴ糖を分離除去することもできる。

【0020】乾燥固形分含量が高い食品にこの甘味料をより良く混合するためには、1,1-GPS の含有量を高めることによって 1,1-GPM の結晶化傾向を抑制することが有利である。

【0021】これは次のようにしても達成することができる。すなわち、水溶液中で蔗糖をシュドモナス・メソアシドフィラまたはアグロバクテリウム・ラジオバクター種の菌の持つ酵素によってトレハロースを主成分とする糖の混合物に変え、この混合物を触媒存在下水素添加し、精製する。特にシュドモナス・メソアシドフィラ MX-45 (BP3619) またはアグロバクテリウム・ラジオバクター MX-232 (BP 3620) が使用される。

ソルビトール、マンニトール、1,6-GPS、1,1-GPS 及び 1,1-GPM からなる液状の甘味料を乾燥状態にするには、溶剤として存在する水を蒸発さなければならない。その際、あらかじめソルビトールとマンニトールの含有量を 5~0% に、好ましくは 1~0% に低下させることが有利である。これは適当な陽イオン交換樹脂ないしゼオライトを用いたクロマトグラフィー分離によって行なう。

この発明の方法で製造された混合物は、蔗糖に似た雑味の無い甘味を有する。

しかし、甘味度は 40~50% しかないため、必要に応じて合成甘味料を添加することによって甘味度を高める

フラクトース

乾燥固形分 2.5%

グルコース

乾燥固形分 2.0%

蔗糖

乾燥固形分 1.0%

ことができるし、例えば蔗糖と同等の甘味度に調整することもできる。カラメルやマーマレードに使用する場合、蔗糖と同程度のボディ効果を与えても再晶出が起らない。

【0022】以下、実施例により本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0023】

【実施例】

実施例 1

A. 生体触媒の製造

プロタミノバクテリウム・ルブルム (Protaminobacter rubrum) (CBS 574.77) 菌株の保存スラント上の菌体を、甜菜糖工場の濃厚汁 8 kg (乾燥固形分 = 65%)、コーンステイプリカー 2 kg、 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 0.1 kg 及び蒸留水 89.9 kg (必要に応じて pH 7.2 に調整) からなる殺菌培地 10 ml に懸濁した。この懸濁液を種菌として、上記成分の培地 200 ml が入った 1 リットルフラスコ中で振盪機による前培養を行なった。

【0024】10本のフラスコで、29°C 30 時間前培養した後、内容物 (合計量は 2 l) を、上記培地 18 l が入っている 30 l の小型培養装置の中に植菌し、29°C で毎分 20 l の空気と毎分 350 回転の撹拌速度で培養した。

菌数が 5×10^9 /ml 以上になった時点で培養を終了させた。遠心分離により培養液から菌体を集菌し、その菌体を 2% のアルギン酸ナトリウム溶液の中で懸濁させた後、その懸濁液を 2% の塩化カルシウム溶液に滴下して細胞を固定化した。

この固定球を水で洗浄した。この生体触媒は +4°C で数週間保存可能であった。

【0025】B. 「異性化蔗糖」の製造

A で得られた固定化細胞を、25~30°C に温度調節されたカラム型リアクターに充填し、乾燥固形分 35~45% の蔗糖溶液を連続的に通液した。流速は、投入された蔗糖の少なくとも 97% が転移されるように調節した。

カラム型リアクターから出て来た「異性化蔗糖」の HPLC 分析により以下の組成が明らかになった。

イソマルチュロース
トレハルロース
イソマルトース
その他のオリゴ糖類 (DP> 3)

乾燥固形分 82.5%
乾燥固形分 9.5%
乾燥固形分 1.5%
乾燥固形分 1.0%

C. 蔗糖の分離

このようにして得られた「異性化蔗糖」から水素添加できない未反応の残存蔗糖を除去するため、H+型の強酸性陽イオン交換体あるいは適切な酵素を用い、カラム型リアクターの中で以下のように処理した。

【0026】i) 強酸性陽イオン交換体による残存蔗糖の除去

強酸性陽イオン交換体 (例、レヴァチット(Lewatit(R)) OC 1052) 100 ml を60° C に加温した適当なガラス製のカラムに充填し、HCl による周知の方法でH+型に再生した。

H+型の陽イオン交換体が充填されたカラムに、Bで得られた「異性化蔗糖」をポンプで100 ml・h⁻¹ の流速で通液した。カラムの出口で得られた生成物の組成はHPLC分析により以下の通りであった。

【0027】

フラクトース	乾燥固形分	3.0%
グルコース	乾燥固形分	2.5%
蔗糖		—
イソマルチュロース	乾燥固形分	82.3%
トレハルロース	乾燥固形分	9.5%
イソマルトース	乾燥固形分	1.5%
その他のオリゴ糖類	乾燥固形分	1.2%

ii) 酵素による蔗糖の除去

フラクトース	乾燥固形分	3.0%
グルコース	乾燥固形分	2.5%
蔗糖		—
イソマルチュロース	乾燥固形分	82.5%
トレハルロース	乾燥固形分	9.5%
イソマルトース	乾燥固形分	1.5%
その他のオリゴ糖類 (DP> 3)	乾燥固形分	1.0%

両方の場合とも、残存蔗糖はグルコースとフラクトースに完全に分解された。単糖類の含有量はこれに応じて高くなっているが、「異性化蔗糖」その他の成分の含有量に変化はなかった。

D. 「異性化蔗糖」の水素添加

マンニトール	乾燥固形分	1.5%
ソルビトール	乾燥固形分	4.0%
1.6-GPS	乾燥固形分	44.4%
1.1-GPS	乾燥固形分	3.8%
1.1-GPM	乾燥固形分	45.3%
水素添加された、及び		
水素添加されていないオリゴ糖	乾燥固形分	1.0%

この生成物は水を蒸発させた後甘味料として使用できるが、その吸湿性のために、特にオリゴ糖の含有割合により、限られた形でしか使用することができなかった。特

固定化転化酵素 (例えばコペンハーゲンのノボ ノルディスク社の SP 362) 11g (ベッド容量が 33 cm³ に相当する) を、60° C に温度調節された適当なガラスカラムに充填した。

B で得られた「異性化蔗糖」を、210 ml・h⁻¹ の流速で連続して通液した。「転化酵素カラム」から流出した生成物の組成はHPLC 分析により以下の通りであった。

【0028】

20

乾燥固形分	3.0%
乾燥固形分	2.5%
	—
乾燥固形分	82.5%
乾燥固形分	9.5%
乾燥固形分	1.5%
乾燥固形分	1.0%

「異性化蔗糖」の残存蔗糖除去物を、ラネー・ニッケルの存在下 80° C で約10 MPa の水素ガスで連続水素添加した。ニッケルの分離とイオン交換樹脂による精製を行った後の、中性条件下で水素添加した「異性化蔗糖」水添物はおおよそ以下の組成であった。

40

乾燥固形分	1.5%
乾燥固形分	4.0%
乾燥固形分	44.4%
乾燥固形分	3.8%
乾燥固形分	45.3%
乾燥固形分	1.0%

に依然として存在するオリゴ糖の一部は、小腸の中で分解されてソルビトール、マンニトール、特にグルコースやフラクトースを遊離するので、糖尿病患者用食品に用

50

いるには問題がある。

実施例 2

実施例 1 の A から C に従い「異性化蔗糖」を製造した。グルコース、フラクトース、オリゴ糖を除去するため、水素添加前にクロマトグラフィーによる糖の分離がなされた。その際、イソマルチュロース、イソマルトース、トレハロースといった二糖類の損失が避けられなければならなかった。

【0029】クロマトグラフィーカラムとして、温度調節が可能で目皿の付いた長さ 10 m、直径 25 cm のカラムを使用した。このカラムを完全に水で満たし、続いて 4 ~ 6% の架橋度の粒度約 0.4 ~ 0.5 mm を有するカルシウム型強酸性陽イオン交換樹脂を、樹脂が完全に水で覆われるようにしながら供給した。

実施例 1 の A および B の方法で得られた「異性化蔗糖」から残存蔗糖を除去した後、乾燥固形分として約 18 kg を約 75°C に温度調節されたカラムに供給し、脱イオン水を用いて流速（線速）毎分約 2 cm で溶離した。カラムの出口では 10 分毎に分画し、各フラクションの糖組成を HPLC で分析した。

最初の 4 つのフラクションには、オリゴ糖のうちの約 60%、イソマルチュロースの約 10%、イソマルトースのうちの約 25% が含まれていた。最後の 5 つのフラクションにはフラクトースのうちの約 70%、トレハロースのうちの約 10%、グルコースのうちの約 20% が含まれていた。

【0030】クロマトグラフィー処理によって得られた「異性化蔗糖」の組成は以下のようであった。

【0031】

フラクトース	乾燥固形分	1.0%
グルコース	乾燥固形分	2.3%
イソマルチュロース	乾燥固形分	85.1%
トレハロース	乾燥固形分	9.8%
イソマルトース	乾燥固形分	1.3%
その他のオリゴ糖類	乾燥固形分	0.5%

この分離方法により少なくともオリゴ糖のうちの約 60%、フラクトースの約 70%、グルコースの約 20% を分離することができた。ただし、イソマルチュロースの 10%、トレハロースの 10%、イソマルトースの 25% の損失を甘受しなければならない。得られた生成物を実施例 1 C の方法で水素添加し、以下の成分の混合物を得た。

マンニトール	乾燥固形分	0.5%
ソルビトール	乾燥固形分	3.3%
1.6-GPS	乾燥固形分	43.8%
1.1-GPS	乾燥固形分	3.9%
1.1-GPM	乾燥固形分	48.5%
その他のオリゴ糖類	乾燥固形分	0.5%

実施例 1 で得られた生成物と比較して、ソルビトールおよびマンニトールの含有量は少なかった。また、水素添加されたオリゴ糖及び水素添加されないオリゴ糖の含

有量は半分しかなかった。

実施例 3

実施例 2 に準じた方法で行なったが、ここでは Si/Al の割合を約 50 にしたゼオライトを分離カラムに充填した。

最初の 5 つのフラクションに、オリゴ糖、グルコース、フラクトースの全量とイソマルトースうちの約 50% が含まれていた。そしてトレハロースもイソマルチュロースもこれらのフラクションの中には見られなかった。

【0032】実施例 1 および 実施例 2 における「異性化蔗糖」中のイソマルトースの含有量は、乾燥固形分として 1.5 ~ 1.3% なので、この方法で損失する二糖類は約 0.8 ないし 0.5% にすぎなかった。同時に、好ましくない存在であるオリゴ糖、グルコース、フラクトースは完全に分離除去された。

得られた「異性化蔗糖」の糖組成は以下の通りであった。

【0033】

フラクトース	乾燥固形分	—
グルコース	乾燥固形分	—
イソマルチュロース	乾燥固形分	89.0%
トレハロース	乾燥固形分	10.2%
イソマルトース	乾燥固形分	0.8%
その他のオリゴ糖類	乾燥固形分	—

これらを実施例 1 D に準じた方法で水素添加し、以下の成分の混合物を得た。

1.6-GPS	乾燥固形分	45.3%
1.1-GPS	乾燥固形分	4.1%
1.1-GPM	乾燥固形分	50.6%

マンニトール、ソルビトールおよびオリゴ糖が含まれていないこの生成物は、ほとんど吸湿性がなく、糖尿病患者にも適したすばらしい甘味料であった。

実施例 4

実施例 1 の方法で得られた、水素添加された「異性化蔗糖」を、実施例 2 において水素添加の前段階で使用したようなクロマトグラフィーカラムを用いて処理を行なった。この際、水素添加された「異性化蔗糖」を乾燥分で約 18 kg 供給し、毎分 2 cm の流速（線速）で溶離した。ただし、この場合は、分離カラムにはナトリウム型の強酸性陽イオン交換樹脂を充填した。

最初の 3 つのフラクションには、オリゴ糖の全量と 1.1-GPM のうちの約 4% が含まれていた。さらに 4 から 8 までのフラクションには 1.1-GPM の残りのパーセント分、1.1-GPS の全量、1.6-GPS のうちの約 99%、マンニトールの約 50% とソルビトールのうちの少量が含まれていた。量の収支から、4 から 8 までのフラクションは、GPM と GPS の合計含有量が約 97 重量% であることが明らかになった。1.6-GPS、マンニトールやソルビトールの残りのパーセント分は 9 以降のフラクションに溶離

されていた。クロマトグラフィー分離をアルカリ土類金属型の陽イオン交換体を用いた実施例 2 の方法に比べ、二糖類と単糖類アルコールとの間の分離がよく行われ、従って主生成物の中に 97 重量%以上の所望の二糖類アルコールを得ることができたのに対して、カルシウム型の陽イオン交換体では収率が約 85% であった。驚いたことに、利用可能な副産物として純度 98% 以上のソルビトールが収率 90% 以上で得られるというもうひとつの利点が判明した。

【0034】その生成物の成分は以下のような組成であった。

【0035】

1.6-GPS	乾燥固形分	46.2%
1.1-GPS	乾燥固形分	4.1%
1.1-GPM	乾燥固形分	49.6%

実施例 5

同じように、水素添加後、クロマトグラフィー分離を行ったが、今度は実施例 3 に従い、ゼオライトを使用した。水素添加された「異性化蔗糖」を 15 から 20 kg (乾燥固形分) 供給し、脱イオン水で溶離した。得られたフラクションを分析したところ、マンニトール、ソルビトールおよびオリゴ糖が最初の 5 つのフラクションの中にすべて存在していることが判明していた。さらにその中には GPM のうちの約 5% も含まれていた。残りの GPM、1.1-GPS ならびに 1.6-GPS の全量は、フラクション 6 から 16 の中に存在した。このようにして、ソルビトール、マンニトール、オリゴ糖を除去し、所望の二糖類アルコールの 97% 以上を得ることに成功した。

【0036】実施例 6

二糖類アルコールを含むフラクションを結晶化するには、一般に水分を蒸発させる。このようにして例えば実施例 5 で得たフラクションを、減圧下で蒸発させ乾燥固形分を 90 から 95% まで濃縮した後、冷した平面の上で凝固させた後擦り潰した。これにより、微粒で粘着

フラクトース	乾燥固形分	0.2%
グルコース	乾燥固形分	0.2%
蔗糖	乾燥固形分	1.0%
イソマルチュロース	乾燥固形分	12.5%
イソマルトース	乾燥固形分	0.2%
トレハロース	乾燥固形分	85.7%
その他のオリゴ糖類 (DP > 3)	乾燥固形分	0.2%

このようにして製造された「異性化蔗糖」は、実施例 1 と同様に、まず水素添加できない未反応の残存蔗糖を除去し、次にラネー・ニッケルの存在下約 80°C で約 8 ~ 12 MPa の圧力の水素ガスで連続的に水素添加した。

マンニトール	乾燥固形分	0.4%
ソルビトール	乾燥固形分	1.0%
1.1-GPM	乾燥固形分	57.7%
1.1-GPS	乾燥固形分	34.4%

性のないさらさらした生成物が得られた。

乾燥分が多い食品の中に甘味料を混入させるとき、1.1-GPS の含有量を高めることによって 1.1-GPM の結晶化傾向を抑制することが有利である。このような甘味料は以下の実施例に示されるように、他の種類の菌株を使用して得られる。

実施例 7

シュードドモナス・メソアシドフィラ (*Pseudomonas mesoacidophila*) MX-45 (BP 3619) 菌株の保存スラント上の菌体を、甜菜糖工場の濃厚汁 8 kg (乾燥固形分 = 65%)、コーンステープリカー 2 kg、 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 0.1 kg 及び蒸留水 89.9 kg (pH 7.2 に調整) からなる殺菌培地 10 ml に懸濁した。この懸濁液を種菌として、上記成分の栄養液 200 ml が入った 1 リットルフラスコ中で振盪機による前培養を行なった。

【0037】10 本のフラスコで、29°C 30 時間前培養した後、内容物 (合計量は 2 l) を、上記培地 18 l が入っている 30 l の小型培養装置の中に植菌し、29°C で毎分 20 l の空気と毎分 350 回転の撹拌速度で培養した。

菌数が 5×10^9 /ml 以上になった時点で培養を終了させた。遠心分離により培養液から菌体を集菌し、その菌体を 2% のアルギン酸ナトリウム溶液の中で懸濁させた後、その懸濁液を 2% の塩化カルシウム溶液に滴下して細胞を固定化した。この固定球を水で洗浄した。この生体触媒は +4°C で数週間保存可能であった。

「異性化蔗糖」を製造するために、このようにして得られたシュードドモナス・メソアシドフィラ MX-45 (BP 3619) 固定化細胞を、約 25 ~ 30°C に温度調節された円筒形リアクターに充填し、乾燥固形分約 35 ~ 45% の蔗糖溶液を連続して通液する。そのときの流速は、供給された蔗糖の少なくとも 97% が転移するように調節した。

円筒形リアクターから出て来た「異性化蔗糖」の HPLC 分析により、以下の成分が明らかになった。

ニッケルの分離とイオン交換樹脂による精製を行なった後の、中性条件下で水素添加した「異性化蔗糖」の組成は以下の通りであった。

【0038】

マンニトール	乾燥固形分	0.4%
ソルビトール	乾燥固形分	1.0%
1.1-GPM	乾燥固形分	57.7%
1.1-GPS	乾燥固形分	34.4%

1.6-GPS

乾燥固形分 6.4%

水素添加された、及び水素

添加されてないオリゴ糖 乾燥固形分 0.2%

水素添加された、および水素添加されていないオリゴ糖とソルビトールを生成物から除去するために、水素添加後、実施例 4 の方法に準じてナトリウムないしカリウム型の強酸性陽イオン交換樹脂を用いてクロマトグラフィー分離を行った。

【0039】フラクションの分析を行なったところ、最初の 3 つのフラクションにはオリゴ糖と GPM のうちの約 4% が含まれていた。また 4 から 8 のフラクションには残りの GPM、1.1-GPS の全量、1.6-GPS の約 99% ならびにマンニトールの約 50% が含まれていた。1.6-GPS、ソルビトールおよびマンニトールの残りは 9 以降のフラクションの中に溶離されていた。

実施例 8

相対甘味度を確認するために、それぞれ 15 人の実験員による 3 点比較法によって、以下の溶液を相互に比較した。

a) 実施例 3 の新しい甘味料の 15.5% 溶液 1 つに対して、7% のサッカロース溶液 2 つ。

b) 同じ甘味料の 17.5% 溶液 1 つに対し、7% のサッカロース溶液 2 つ。

c) 同じ甘味料の 18.5% 溶液 1 つに対し、7% のサッカロース溶液 2 つ。

テスト a) では 6 人がこの新しい甘味料を見つけだすことができたが、統計学的な有意差はなかった。

テスト b) では 2 人がこの新しい甘味料の方を「さらに甘い」と感じた。

【0040】統計学的な有意差が見られた ($p < 0.01$)。

【0041】テスト c) では同様に 12 人がこの新しい甘味料の方が「さらに甘い」と感じた。統計学的な有意差が見られた ($p < 0.01$)。

【0042】本発明の甘味料の甘味度は、蔗糖の 45% であった。甘味度を増すためには、この新しい甘味料に、フラクトース、キシリトール、サッカリン、サイクラメート、アスパルテームあるいはアセスルファム-K (Acesulfam-K) を混合することができる。

実施例 9

新しい甘味料を使用してアイスクリームを製造する場合、スイート クリーム (固形分の 40% が脂肪) 22.1 kg、全乳 (固形分の 3.7% が脂肪) 58.1 kg、脱脂粉乳 4.5 kg に実施例 3 の甘味料 15 kg と安定剤 0.3 kg を混合し、ホモジナイズしてから、殺菌する。殺菌後、粉末状のフェニルアラニンアスパラギン酸メチルエステル 53 g をこのアイスクリームの固まりに添加し、混ぜ合わせ、攪拌し、冷凍した。この製品は 15 kg の砂糖を使用して製造したアイスクリームと同程度の甘味度であった。

フルーツ アイスクリームの場合、さらに甘味を加えない方が有利でさえある。というのはこの新しい甘味料は果実味をかなりよく引き立たせるからである。

実施例 10

低カロリーのイチゴジャムを作るには、潰したイチゴ 1 kg、この新しい甘味料 1 kg、中程度にエステル化された 150° SAG-USA のペクチン 8 g (ウルマン著、工化学百科事典、3 版、13 巻、180 頁) ならびに 7 g のワインビネガーを混合し、3 分間煮詰めて、準備したグラスにあげた。

砂糖で作られたジャムとの比較では、硬度に関しては全く差はなく、甘味は多少弱かった。しかし、その代わりにイチゴの味はより強く感じられた。6カ月の保存期間後も甘味料の結晶化は見られなかった。

フロントページの続き

(72)発明者 ハンスペーター・デゲルマン
ドイツ 67549 ボルムス・ドネルスベルクシ
ュトラーセ 2

(72)発明者 ボルフガング・バツハ
ドイツ 38118 ブラウンシュバイク・ソフィ
エンシュトラーセ 23

(72)発明者 モハマト・ムニル
ドイツ 67271 キンデンハイム・アムキンダ
ーバツハ 1

(72)発明者 イエルク・コバルクツイク
ドイツ 67269 グリエンシュタット・ベスト
リング 38

(72)発明者 マンフレート・フオゲル
ドイツ 67271 ノイライニンゲン・アムヘレ
ンプファート 1